Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 379- 392

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۳۹۲-۳۷۹

مقاله پژوهشی

بررسی خواص فیزیکوشیمیایی موسیلاژ بامیه و مقایسه کارآیی استخراج دو روش حلال و فوق بحرانی

فاطمه کرانی[۱]- جواد سرگلزایی[۲]*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۰۹
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۴/۲۸

چکیده

خواص درمانی بامیه از پلی‌ساکاریدهای موجود در غلاف می‌باشد که قسمت اعظم آن در بخش لزجی گیاه وجود دارد و موسیلاژ خوانده می‌شود. بخش اعظم موسیلاژ از کربوهیدرات‌ها تشکیل شده است و خاصیت اصلی آن در مواجه شدن با مولکول‌های آب است که به‌صورت ژل در می‌آید و در صنایع مختلف کاربرد دارد. موسیلاژ در صنایع غذایی به‌عنوان پایدار ننده و امولسیفایر کاربرد دارد و در صنایع داروسازی برای کنترل آزادسازی قرص‌ها و تولید شربت استفاده می‌شود. هدف از این تحقیق بهینه‌سازی شرایط استخراج موسیلاژ از بامیه به دو روش حلال و روش فوق بحرانی جهت یافتن نقاط بهینه استخراج می‌باشد. به‌منظور به‌دست آوردن مدل ریاضی و یافتن بیشترین تاثیر پارامترها بر پاسخ از روش سطح پاسخ استفاده شده است. در روش استخراج با حلال متغیرهای دما، زمان و نسبت حلال به ماده جامد برای رسیدن به حداکثر میزان بازده، به‌ترتیب ۶۰°C، ۲۲۴ min و ۴۸ به‌دست آمدند و دما و نسبت حلال به ماده جامد به‌ترتیب بیشترین تاثیر را بر بازده استخراج داشت. در روش استخراج فوق بحرانی دما، فشار و زمان به‌عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند و برای رسیدن به حداکثر بازده به‌ترتیب ۵۰°C، ۲۵/۵ bar و ۱۳۵ min به‌دست آمد. میزان بازده موسیلاژ استخراجی در نقطه بهینه در روش استخراج با حلال ۵/۴۲ و در روش فوق بحرانی ۱/۶۹ درصد بود. درصد بازده استخراج موسیلاژ در روش فوق بحرانی کمتر از روش خیساندن شد اما میزان حلال مصرفی و زمان استخراج در روش خیساندن بیشتر از روش فوق بحرانی بود. عصاره حاصل از روش فوق بحرانی توسط GC-MS آنالیز شد و نتیجه حاکی از حضور پلی‌ساکاریدها در نمونه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گیاه بامیه، بهینه‌سازی، حلال، فوق بحرانی، پلی‌ساکارید

مقدمه

بامیه با نام علمی *Abelmoschus esculentus* به خانواده پنیرک (Malvaceae) تعلق دارد (پیوست، ۱۳۸۸). گیاه بامیه بومی آفریقا و موطن اصلی آن اتیوپی است. سپس از آنجا به شمال آفریقا، شرق مدیترانه، کشورهای عربی و هند گسترش یافته است (Kalia *et al*, 1962). پراکندگی بامیه در ایران بیشتر به مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مربوط بوده و در استان‌های خوزستان، ایلام، کرمانشاه، جنوب فارس، بوشهر و هرمزگان دیده می‌شود (مظفریان، ۱۳۹۱). حاشیه برگ‌ها دارای لوب‌های کم عمق تا لوب‌های عمیق است. برگ‌های جوان بامیه اغلب به‌عنوان یک سبزی در برخی نقاط مثل غرب آفریقا و جنوب شرقی آسیا مصرف می‌شوند. شاخه‌های ترد و جوانه‌های گل اغلب همراه برگ‌ها خورده می‌شوند (Irvine,1987).

برگ‌های بامیه ممکن است به‌عنوان سبزی مانند برگ‌های چغندر پخته شوند و همچنین به‌صورت خام در سالاد استفاده شوند (Tripathi *et al*., 2011). میوه‌ها قسمت عمده خوراکی را تشکیل داده که به صورت پخته و سرخ شده استفاده می‌شود. در ترکیه غلاف جوان آن را خشک کرده و در زمستان از آن استفاده می‌کنند (Lamont, 1999) . میوه‌ها را می‌توان به صورت ترشی نیز استفاده کرد (Tripathi *et al*., 2011). بامیه که یکی از سبزیجاتی است که در طب سنتی چینی برای بیماری‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گرفته است. خصوصیات سلامتی بامیه به‌خاطر مقدار پلی‌ساکاریدهای آن است. اخیرا نتایجی به‌دست آمده که پکتین تاثیرات زیادی بر سلامتی دارد از جمله یک ضددیابت و کاهنده کلسترول خون، ممانعت‌کننده برای لیپاز، آنتی‌اکسیدان و فعالیت‌های ایمنی بدن دارد (Zhanga *et al*., 2018). بامیه به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضداشتعالی برای بهبود بخشیدن

۱ و ۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و استاد، گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران
(* - نویسنده مسئول: Email: sargolzaei@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/ifstrj.v17i2.84851

تنگی نفس و آسم مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ivanice *et al*., 2013). لعاب و الیاف سلولزی موجود در جداره میوه، علاوه بر کمک در پاک کردن دستگاه گوارش، موجب هضم غذا در بدن می‌شود و کلسترول و قند خون را تنظیم می‌نماید. خاصیت لزجی گیاه بامیه به دلیل ماده غلیظ و لزجی است که در غلاف میوه وجود دارد و موسیلاژ نامیده می‌شود. موسیلاژ بامیه یکی از پلی‌ساکاریدهایی است که در حال حاضر در صنعت داروسازی به‌عنوان پلیمر آبدوست در روکش قرص‌ها استفاده می‌شود (Bakre *et al*., 2009).

بررسی آمار مصرف داروها نشان از استقبال چشمگیر از اشکال و مواد دارویی گیاهی دارد. دلیل آن احتمالا وجود عوارض کمتر، ارزانی و قابلیت دسترسی آسان در مقایسه با داروهای شیمیایی می‌باشد. به‌علاوه می‌تواند راهبردی جدید در کاهش وابستگی ارزی و داریی به مواد شیمیایی به‌عنوان یک جایگزین بومی نیز موثر باشد. موسیلاژها همچنین از جمله این مواد هستند که از دسته پلیمرهای بی‌شکل و نیمه شفاف بوده و جزء هیدروکلوئیدها هستند. این مواد مولکول‌های هیدروفیل و آبدوستی هستند که با آب قابل استخراج بوده و تشکیل محلول‌های غلیظ یا ژلی را می دهند. ژل‌ها کاربردهای زیادی در صنایع غذایی و دارویی و غیردارویی دارند. از مهمترین کاربردهای دارویی معرفی آن برای خواص نرم‌کنندگی سلول‌های مجاری تنفسی و به‌خصوص تسکین سرفه می‌باشد (Jani *et al*., 2009). مطالعات بسیاری روی استخراج موسیلاژ گیاه بامیه و کاربردهای آن در صنایع دارویی و غذایی انجام شده است. مطالعه نشان داده است که عصاره بامیه پتانسیل یک امولسیفایر در محیط اسیدی را دارد که می‌تواند یک امولسیون رقیق با پایداری خوب را تشکیل دهد. چنین خاصیتی می‌تواند در جهت آزاد سازی داروهای آب‌گریز امولسیون شده و یا مواد مغذی در میان محیط اسیدی معده مورد بهره بردای قرار گیرد (Ghori *et al*., 2013).

Farooq و همکاران (۲۰۱۳) روی خواص ارگانولپتیک موسیلاژ گیاه بامیه کار کردند و به نتیجه رسیدند که موسیلاژ بامیه دارای خواص جریان‌پذیری خوب و حلالیت بالایی در آب است که می‌تواند به‌طور ایمن و بدون اثرات جانبی در داروها استفاده شود. Noorlaila و همکاران (۲۰۱۴) روی خاصیت امولسیون‌کنندگی موسیلاژ استخراجی از گیاه بامیه مطالعه کردند. Nazni و همکاران (۲۰۱۲) بر روی استخراج و ارزیابی خواص ارگانولپتیک موسیلاژ از بامیه و چند گیاه دیگر مطالعاتی انجام داده و از اتانول و استون برای خالص‌سازی موسیلاژ بهره بردند. در مطالعه‌ای دیگر روی خصوصیات پایه‌ای از جمله شاخص تورم، پایداری امولسیونی، ویسکوزیته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی موسیلاژ گیاه بامیه بررسی‌هایی انجام شد (Fekadu Gememde *et al*., 2018).

در مطالعه‌ای در زمینه کاربرد موسیلاژ گیاه بامیه در داروسازی، Ameena و همکاران (۲۰۱۰) پس از استخراج موسیلاژ از بامیه و اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکوشیمیایی موسیلاژ، آن را در فرمولاسیون قرص به‌کار بردند و پارامترهایی نظیر قطر، ضخامت، تغییر وزن، سختی و شکنندگی مورد ارزیابی قرار گرفت. بر طبق مشاهدات، غلظت‌های پایین موسیلاژ بامیه می‌تواند به‌عنوان جایگزین نشاسته در فرمولاسیون قرص، قرار گیرد و همچنین سطح‌های غلظتی بالای موسیلاژ بامیه می‌تواند در سیستم آزاد سازی داروها به‌عنوان یک ماده طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. در مطالعه‌ای Mishra و همکاران (۲۰۰۸) موسیلاژ بامیه را به‌عنوان یک پیشنهاد جدید برای جایگزینی مواد پلیمری مورد استفاده در صنایع مختلف، معرفی کردند. در تحقیقی اثر موسیلاژ بامیه در آزادسازی هیدروکلوئید پروپرانول در قرص‌ها مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد که بالاترین سختی و پایین‌ترین شکنندگی مربوط به قرص تولیدی از بامیه است (Zaharuddin *et al*., 2014).

در این تحقیق موسیلاژ بامیه از دو روش استخراج با حلال و استخراج با سیال فوق بحرانی انجام شده و بهینه‌سازی بازده هر دو روش و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی عصاره حاصل از هر دو روش مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این تحقیق انتخاب بهترین روش برای استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه و پیدا کردن شرایط بهینه در روش استخراج می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گیاه بامیه تازه از سوپر مارکت محلی تهیه شد، این گیاه در استان خوزستان رشد یافته است. مواد شیمیایی نظیر اتانول خالص، استون، کلروفرم، استونیتریل از شرکت‌های مرک آلمان و سیگما آلدریچ آمریکا و شیشه آلات و وسایل آزمایشگاهی نظیر بالون حجمی، بورت، پیپت، استوانه مدرج، کاغذ صافی، فالکون، بشر، دماسنج، قیف و ارلن خریداری شدند. بعد از انتقال میوه بامیه به آزمایشگاه آلودگی‌ها و کثیفی به صورت دستی از گیاه پاک گردید و سپس با آب به دقت شستشو داده شدند. دانه‌های بامیه جدا شدند. سپس غلاف‌های بامیه در دمای حدود ۴۰ درجه سانتیگراد داخل دستگاه آون فن دار دیجیتال مدل 6882A خشک شدند. پس از آن به‌وسیله دستگاه آسیاب‌کن برقی ساخت کشور آلمان به‌صورت پودر در آمده و از الک ۳۰ مش عبور داده شد تا آماده استخراج شوند.

روش استخراج

استخراج با حلال

برای استخراج موسیلاژ گیاه بامیه از روش رایج خیساندن استفاده شد. ابتدا مقداری از پودر بامیه را توسط ترازوی دیجیتال (GR-200، ژاپن) وزن کرده و به بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس داخل بشر با توجه به نسبت‌های مختلف حلال به ماده جامد که در طراحی آزمایش مشخص شده است آب مقطر ریخته و به‌طور مداوم به مدت ۱ تا ۵ ساعت هم‌زده می‌شود تا موسیلاژ به‌طور کامل در آب آزاد شود. سپس محلول صاف می‌شود و در مجاورت یک حلال آلی (در اینجا از اتانول و استون به نسبت مساوی استفاده گردید) قرار داده می‌شود.

موسیلاژ در مجاورت حلال آلی رسوب کرده و به‌صورت لخته در می‌آید. پس از آن دوباره محلول صاف شده داخل پتری دیش ریخته می‌شود و روی بن ماری ۴۵ درجه سانتی‌گراد ساخت ایران قرار داده تا حلال باقیمانده داخل آن تبخیر شود. سپس ماده باقی مانده داخل پتری دیش را داخل آون فن‌دار ساخت شرکت ریحان طب ایران با ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک کرده و پودر می‌شود و تا زمان آنالیز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در فلاسک نگهداری می‌شود.

استخراج با سیال فوق بحرانی

تکنیک‌های نوین در جداسازی خاص برای این استخراج موجود هستند (مسکوکی و همکاران، ۱۳۸۹). با توجه با زمان طولانی و حجم بالای حلال مصرفی در روش استخراج با حلال، روش‌های مدرن استخراج از جمله استخراج با سیال فوق بحرانی مورد توجه قرار گرفت (فرزانه مقدم و همکاران، ۱۳۹۸). استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه توسط دستگاه استخراج با سیال فوق بحرانی که در آزمایشگاه دانشکده مهندسی دانشگاه فردوسی مشهد طراحی و ساخته شده، صورت گرفته است. حلال استخراج کربن دی اکسید بود که در درون سیلندر ۴۵ کیلوگرمی (خوراکیان، ایران) قرار داشت. در هر مرحله از آزمایش حدود پنج گرم از پودر غلاف گیاه بامیه با مش ۳۰ توسط ترازوی آزمایشگاهی دقیق (با دقت ۰/۰۰۰۱، کرنل، آلمان) توزین و داخل کاغذ صافی پیچیده و درون مخزنی که جهت استخراج تعبیه گردیده، قرار داده شد. جهت افزایش قطبیت دی اکسید کربن فوق بحرانی حدود ۵ میلی لیتر حلال اتانول ۸۰٪ به‌عنوان اصلاح‌گر به درون مخزن استخراج تزریق گردید تا دی اکسید کربن بتواند ترکیبات موسیلاژی را بهتر در خود حل کند.

تعیین مونوساکاریدهای سازنده توسط کروماتوگرافی گازی، طیف‌سنج جرمی(GC-MS)

ابتدا مشتق تری متیل سیلیل از موسیلاژ تهیه شد. بدین منظور دو میلی‌گرم از نمونه موسیلاژ خالص و خشک شده با ۲۰۰ میکرولیتر استونیتریل و ۲۰۰ میکرولیتر بیس (تری متیل سیلیل) تری فلورو استامید[1] مخلوط شد. سپس مخلوط در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت در یک آمپول شیشه‌ای حرارت داده شد. یک میکرولیتر از نمونه توسط نمونه بردار خودکار به دستگاه GC تزریق شد. آون با دمای اولیه ۵۰^{oC} (زمان انتظار ۲ دقیقه) و دمای نهایی ۲۸۰oC و با نرخ افزایش ۱۰ oC/min برنامه‌ریزی شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای نهایی نگه داشته شد و گاز هلیم با نرخ ۱ ml/min به‌عنوان گاز حامل با جریان ثابت استفاده شد. درجه حرارت ورودی و رابط در دمای ۲۸۰oC نگه داشته شد.

تعیین بازده وزنی موسیلاژ استخراجی

برای دست‌یابی به بازده وزنی موسیلاژ (پلی‌ساکارید) برحسب گرم موسیلاژ استخراجی به گرم ماده خشک اولیه از رابطه زیر استفاده شد:

$$\text{بازده} = \frac{\text{گرم موسیلاژ استخراجی}}{\text{گرم ماده خشک اولیه}} \times 100 \qquad (۱)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور حداقل رساندن تعداد آزمایش‌ها در روش استخراج با حلال و استخراج با سیال فوق بحرانی از طرح آماری به روش سطح پاسخ و طراحی مرکب مرکزی[2](CCD) استفاده شد. جدول آماری آنالیز متغیرها بر روی داده‌های تجربی با استفاده از نرم‌افزار Design Expert 7.0 انجام شد.طبق جدول ۱ سه عامل مقدار حلال به ماده جامد (میلی‌لیتر به گرم) و دما (درجه سانتی‌گراد) و زمان (ساعت) به‌عنوان سه متغیر مستقل و موثر بر عملکرد استخراج با حلال انتخاب شدند.

در روش استخراج با سیال فوق بحرانی دی اکسید کربن نیز طرح مرکب مرکزی با سه متغیر و شش تکرار در نقطه مرکزی طرح، جهت یافتن اثر متغیرهای شامل دما، فشارو زمان بر پاسخ بازده استخراجی مورد استفاده قرار گرفت که در جدول ۲ آمده است.

جدول ۱- متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آنها در روش استفاده از حلال

متغیر مستقل	نماد ریاضی	سطوح متغیر				
		α	+۱	۰	−۱	−α
دما (oC)	A	۷۰	۶۰	۵۰	۴۰	۳۰
زمان (h)	B	۵	۴	۳	۲	۱
نسبت حلال به ماده جامد (ml/g)	C	۵۰	۴۰	۳۰	۲۰	۱۰

1 Triflouroacetamide

2 Central Composite Design

جدول ۲- متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آنها در روش فوق بحرانی

متغیر مستقل	نماد ریاضی	سطوح متغیر				
		α	+۱	۰	−۱	−α
دما (oC)	A	۷۰	۶۰	۵۰	۴۰	۳۰
فشار (bar)	B	۳۰۰	۲۵۰	۲۰۰	۱۵۰	۱۰۰
زمان (min)	C	۱۵۰	۱۲۰	۹۰	۶۰	۳۰

نتایج و بحث

بهینه‌سازی استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه به روش استخراج با حلال با استفاده از روش سطح پاسخ

در مطالعات بهینه‌سازی کلاسیک تنها به بررسی یک فاکتور می‌پرداختند و سایر فاکتورها ثابت نگهداشته می‌شد. از معایب این بهینه‌سازی می‌توان به زمان‌بر بودن آنالیز، تعداد زیاد مراحل آزمایش و هزینه بالا اشاره کرد. علاوه بر این برهمکنش پارامترها بر یکدیگر نیز نادیده گرفته می‌شد. بهینه‌سازی با استفاده از روش پاسخ سطح می‌تواند بر این مشکلات غلبه کند (Haaland, 1989). در تحقیق حاضر از این روش برای بهینه‌سازی استخراج ترکیبات استفاده شده است. در این مطالعه با توجه پارامتر و سطوح مشخص شده، تعداد ۲۰ آزمایش توسط نرم‌افزار طرح آزمایش (Desig Expert) نسخه ۷ نتیجه شد. جدول ۳ شرایط عملیاتی در هر آزمایش را نشان می‌دهد. علاوه بر این پاسخ‌های متناظر با هر آزمایش نیز در این جدول آمده است.

جدول ۳- بهینه‌سازی استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه با روش حلال

آزمایش	متغیرهای مستقل			متغیرهای وابسته(پاسخ)
	دما (°C)	زمان (h)	نسبت حلال به ماده جامد(ml/g)	بازده (٪)
۱	۵۰	۳	۳۰	۴/۸۱
۲	۴۰	۴	۲۰	۴/۱۸
۳	۶۰	۲	۲۰	۴/۵۷
٤	۴۰	۴	۴۰	۴/۷۳
٥	۴۰	۲	۲۰	۳/۸۲
٦	۵۰	۳	۱۰	۳/۹۴
۷	۴۰	۲	۴۰	۴/۲۲
۸	۵۰	۱	۳۰	۴/۵۲
۹	۶۰	۲	۴۰	۵/۱۲
۱۰	۶۰	۴	۲۰	۴/۹۶
۱۱	۵۰	۳	۳۰	۴/۹۴
۱۲	۵۰	۳	۳۰	۴/۷۲
۱۳	۵۰	۳	۳۰	۴/۸۲
١٤	۵۰	۵	۳۰	۵/۰۵
١٥	۵۰	۳	۳۰	۴/۸۵
١٦	۵۰	۳	۵۰	۵/۱۳
۱۷	۳۰	۳	۳۰	۳/۷۸
۱۸	۵۰	۳	۳۰	۴/۷۵
۱۹	۶۰	۴	۴۰	۵/۴
۲۰	۷۰	۳	۳۰	۵/۲

گزینش مدل مناسب در روش استخراج با حلال

برای این‌که مدل توانایی خوبی برای برازش اطلاعات داشته باشد لازم است که R^2 adjusted و R^2 predicted دارای بالاترین مقدار باشند. ضریب تبیین R^2 به‌عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می‌شود که معیاری از درجه تناسب برازش هست. بنابراین هرچه مقدار R^2 به یک نزدیک‌تر شود، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به‌عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر هست. برای پاسخ بازده استخراج موسیلاژ از مدل درجه دو با کمترین مقدار احتمال p، بهترین مدل برای بررسی اثر متغیرهای مستقل بر استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه به روش حلال انتخاب گردید. در جدول ۴ آنالیز جدول آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ اصلاح شده آمده است.

جدول ٤- نتایج جدول آنالیز واریانس مدل سطح پاسخ اصلاح شده درجه دوم برای بازده استخراج با حلال

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	احتمال p
مدل	۶	۴/۰۶	۰/۶۸	۱۱۱/۳۵	<۰/۰۰۰۱
A (دما)	۱	۲/۲۱	۲/۲۱	۳۶۲/۹۵	<۰/۰۰۰۱
B (زمان)	۱	۰/۴۲	۰/۴۲	۶۹/۵۴	<۰/۰۰۰۱
C (نسبت حلال به ماده جامد)	۱	۱/۱۷	۱/۱۷	۱۹۱/۹۷	<۰/۰۰۰۱
A^2	۱	۰/۱۸	۰/۱۸	۲۹/۲۶	۰/۰۰۰۱
B^2	۱	۲/۶۸۹E-۰۰۳	۲/۶۸۹E-۰۰۳	۰/۴۴	۰/۵۱۷۵
C^2	۱	۰/۱۳	۰/۱۳	۲۱/۹۶	۰/۰۰۰۴
باقی‌مانده	۱۳	۰/۰۷۹	۶/۰۷۶E-۰۰۳		
فقدان برازش	۸	۰/۰۴۹	۶/۱۰۵E-۰۰۳	۱/۰۱	۰/۵۱۹۴
خطای خالص	۵	۰/۰۳۰	۶/۰۳۰E-۰۰۳		
کل	۱۹	۴/۱۴			

مدل‌های ریاضی برای پاسخ با استفاده از روش رگرسیون چندگانه مورد ارزیابی قرار گرفت .تابع واکنش یک معادله چندجمله‌ای می‌باشد که با معادله زیر داده می‌شود.

$$y=b_0+\Sigma b_i x_i+\Sigma b_{ii} x_i^2+\Sigma b_{ij} x_i x_j \quad (۲)$$

که b_0 و b_i و b_{ii} و b_{ij} ضرایب رگرسیونی برای به‌ترتیب عرض از مبدأ، خطی، درجه دوم و برهمکنش و x_i و x_j متغیرهای مستقل کدبندی شده هستند.

معادله‌های مدل برازش داده شده بر پاسخ‌ها به صورت زیر می‌باشد:

$$y=4.81+0.37\times A+0.16\times B+0.27\times C-0.084\times A^2-0.010\times B^2-0.073\times C^2 \quad (۳)$$

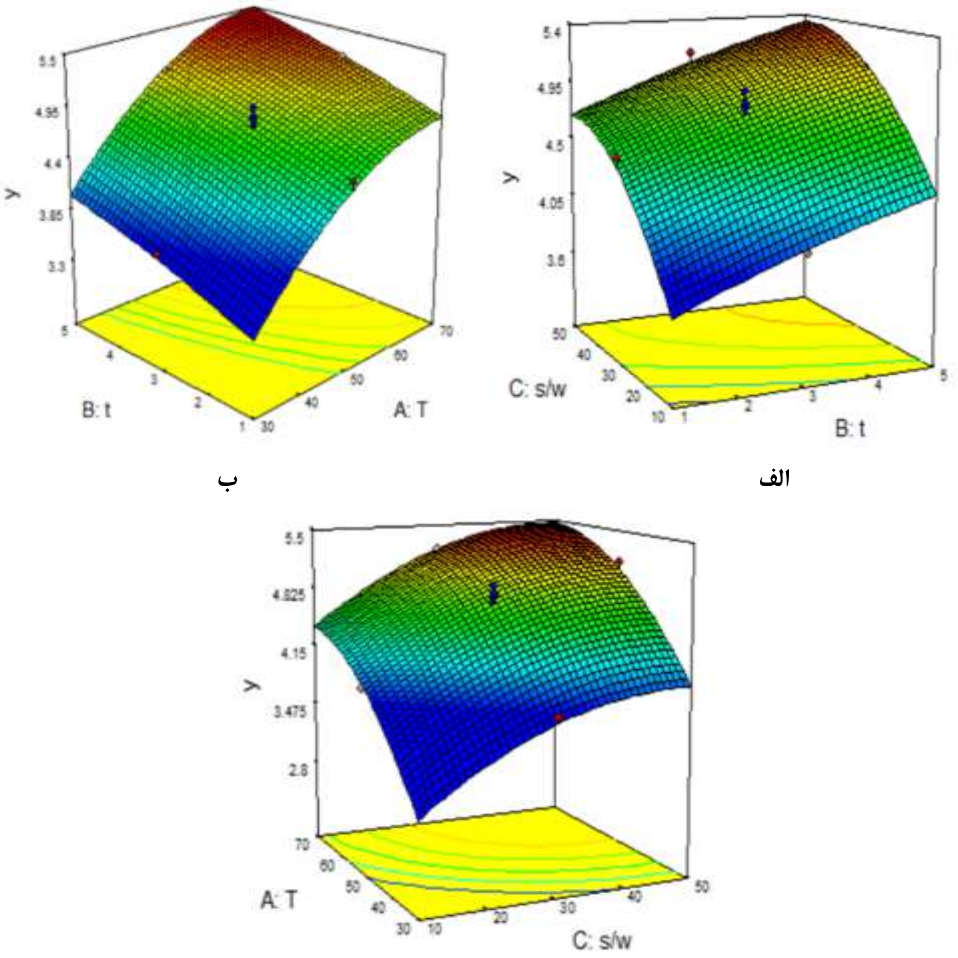
با توجه به نتایج حاصله در مورد بازده استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه به روش حلال، اثر درجه اول دما، زمان و نسبت حلال به ماده جامد و اثرات درجه دوم دما و نسبت حلال به ماده جامد معنی‌دار شدند. همچنین نتایج نشان داد که دما و بعد از آن نسبت حلال به ماده جامد بیشترین تاثیر را در بازده استخراج موسیلاژ دارد.

آنالیز پاسخ سطح در روش استخراج با حلال

برای شهودی کردن رابطه متغیرهای مستقل و پاسخ همچنین اثر متقابل هر متغیر مستقلی بر سیستم، نمودارهای سه بعدی سطح پاسخ با دو متغیر مستقل در مقابل پاسخ رسم شده‌اند، در حالی‌که متغیر سوم ثابت در نظر گرفته‌شده‌است. مقادیر بهینه متغیرهای مستقل را می‌توان با استفاده از همین نمودارها استنباط کرد. تغییرات بازده استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه براساس تغییرات دما و زمان، در نسبت حلال به ماده جامد ثابت ۳۰ در شکل(۲- الف) نشان داده شد. در نمودار سطح پاسخ بازده استخراج موسیلاژ مشاهده می‌شود که بازده استخراج با افزایش زمان از ۱ تا ۵ ساعت، افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش دما از ۳۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد، افزایش محسوس تری در بازده استخراج مشاهده می‌شود. در سطح پایین زمان تغییرات بازده با تغییر دما از ۳۰ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد که به دلیل بالا رفتن توانایی حلال در دماهای بالا و نفوذ حلال به داخل ماتریکس جامد می‌باشد. با بالا رفتن دما انتقال جرم آب به پلی‌ساکاریدهای محلول از دیواره سلولی پودر گیاه سریع‌تر و آسان‌تر صورت می‌گیرد.

در سطح بالای زمان، تغییرات دما تاثیر بیشتری بر بازده استخراج دارد. تحقیقات انجام شده توسط Oosterveld و همکاران (۱۹۹۶) و Zykwinska و همکاران (۲۰۰۶) نیز افزایش عملکرد استخراج را با

افزایش دما در دوره‌های زمانی ثابت را نتیجه می‌دهد. Liu و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که در زمان طولانی‌تر پلی‌ساکارید بیشتری از گیاه استخراج می‌شود. تغییرات بازده استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه براساس تغییرات نسبت حلال به ماده جامد اولیه و زمان، در دمای ثابت (۵۰oC) در شکل(۲- ب) نشان داده شد. بازده استخراج با افزایش نسبت آب به ماده خام از ۱۰ تا ۵۰، به سرعت افزایش می‌یابد. با افزایش زمان از ۱ تا ۵ ساعت بازده استخراج با شیب ملایم‌تری افزایش می‌یابد. در سطح پایین نسبت حلال به ماده جامد، بازده استخراج با افزایش زمان افزایش می‌یابد اما این افزایش بازده در سطح بالای نسبت حلال به ماده جامد محسوس‌تر است. این افزایش بازده به دلیل در دسترس بودن مقدار بالای مایع که منجر به افزایش نیرو محرکه برای خارج کردن موسیلاژ گیاهی از ماده خام می‌شود. Koocheki و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که افزایش بازده با افزایش نسبت آب به ماده جامد نسبت مستقیم دارد. از این رو مقدار آب غیرکافی و یا مقدار ماده خام بالا ممکن است بازده استخراج را کاهش دهد. تغییرات بازده استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه براساس تغییرات دما و نسبت حلال به ماده جامد در زمان ثابت (۳ ساعت) در شکل (۲- ج) نشان داده شد. در دماهای بالاتر، محلول آبکی غیرچسبناک‌تری حاصل می‌شود در نتیجه موسیلاژ می‌تواند به‌راحتی در آب آزاد شود و بازده را افزایش می‌دهد. در سطوح پایین دمایی با افزایش نسبت حلال به ماده جامد، بازده موسیلاژ با شیب کمی افزایش می‌یابد اما در سطوح بالای دمایی با افزایش نسبت حلال به ماده جامد، افزایش بازده استخراج موسیلاژ بسیار قابل توجه خواهد بود. Bendahou و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش کردند که بازده استخراج پلی‌ساکاریدها به‌طور مشخصی با افزایش نسبت حلال به ماده خام اولیه، افزایش می‌یابد که می‌تواند به علت افزایش نیرو محرکه برای انتقال جرم پلی‌ساکاریدها باشد.



ب الف

ج

شکل ۲- نمودارهای سطح پاسخ پارامترهای استخراج در روش حلال، بر پاسخ بازده

تعیین شرایط بهینه استخراج موسیلاژاز گیاه بامیه در روش حلالی

به‌منظور بهینه‌سازی بازده استخراج موسیلاژ بامیه از تکنیک بهینه‌سازی عددی استفاده شد. شاخص‌ها و اهداف بهینه‌سازی برای هریک از متغیرها و پاسخ فرایند در (جدول ۵) آورده شده است. شرایط بهینه با توجه به شاخص‌های مورد نظر دما ۶۰ درجه سانتی‌گراد، زمان ۳/۴۴ ساعت و نسبت حلال به ماده جامد ۴۸ به‌دست آمد. با توجه به اینکه مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل و مقادیر واقعی به‌دست آمده فاقد اختلاف معنی‌دار بودند می‌توان نتیجه گرفت که مدل به‌دست آمده قابل قبول و مناسب می‌باشند. مقادیر واقعی گزارش شده در جدول ۶ میانگین دو تکرار می‌باشند.

جدول ۵- شاخص‌ها و اهداف بهینه سازی استخراج موسیلاژ بامیه به روش حلال

متغیرها-پاسخ	هدف	حدپایین	حد بالا	درجه اهمیت
دما	داخل محدوده	۳۰	۷۰	۳
زمان	داخل محدوده	۱	۵	۳
نسبت حلال به ماده جامد	داخل محدوده	۱۰	۵۰	۳
بازده استخراج موسیلاژ	بیشترین	۳/۷۸	۵/۴۲	۳

جدول ٦- مقادیر واقعی و پیش‌بینی شده بازده استخراج در شرایط بهینه

پاسخ	مقدار پیش‌بینی شده	مقدار واقعی
بازده موسیلاژ استخراجی (٪وزنی)	۵/۴۲	۵/۱۲

جدول ۷- بهینه‌سازی استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه با روش سیال فوق بحرانی

آزمایش	متغیرهای مستقل			متغیرهای وابسته (پاسخ)
	دما (°C)	فشار (bar)	زمان (min)	بازده (٪)
۱	۶۰	۲۵۰	۱۲۰	۱/۴۹
۲	۵۰	۲۰۰	۹۰	۱/۲۴
۳	۶۰	۱۵۰	۱۲۰	۱/۲۱
٤	۳۰	۲۰۰	۹۰	۰/۸۵
٥	۶۰	۱۵۰	۶۰	۰/۸۴
٦	۵۰	۲۰۰	۹۰	۱/۲۷
۷	۵۰	۲۰۰	۳۰	۰/۸۳
۸	۷۰	۲۰۰	۹۰	۰/۸۷
۹	۵۰	۳۰۰	۹۰	۱/۸۳
۱۰	۵۰	۱۰۰	۹۰	۱/۰۹
۱۱	۵۰	۲۰۰	۹۰	۱/۲۴
۱۲	۵۰	۲۰۰	۱۵۰	۱/۶۹
۱۳	۴۰	۲۵۰	۶۰	۰/۸۸
۱٤	۴۰	۲۵۰	۱۲۰	۱/۴۸
۱٥	۴۰	۱۵۰	۶۰	۰/۸۲
۱٦	۵۰	۲۰۰	۹۰	۱/۲۳
۱۷	۶۰	۲۵۰	۶۰	۱/۱
۱۸	۴۰	۱۵۰	۱۲۰	۱/۴۵
۱۹	۵۰	۲۰۰	۹۰	۱/۲۵
۲۰	۵۰	۲۰۰	۹۰	۱/۲۸

بهینه‌سازی استخراج موسیلاژ (پلی‌ساکارید) از غلاف گیاه بامیه به روش سیال فوق بحرانی با استفاده از روش سطح پاسخ

در این روش با داشتن پارامترها و محدوده‌های ذکرشده در جدول ۲، تعداد ۲۰ آزمایش توسط نرم افزار طراحی شد .فهرست آزمایش‌های طراحی شده با روش سیال فوق بحرانی و نقاط تعیین شده در هر آزمایش در جدول ۷ نشان داده شده است .ستون آخر جدول، پاسخ محاسبه شده هر آزمایش را پس از انجام نشان می‌دهد.

گزینش مدل مناسب در استخراج فوق بحرانی

در این تحقیق طبق مقادیر R^2adjusted و R^2predicted بهترین مدل برازش یافته در روش استخراج فوق بحرانی، برای پاسخ بازده مدل درجه دوم می‌باشد که نتایج آنالیز آماری و جدول آنالیز واریانس مدل اصلاح شده آن در ادامه آورده شده است.

جدول ۸- نتایج جدول آنالیز واریانس (ANOVA) مدل سطح پاسخ اصلاح شده درجه دوم برای بازده استخراج سیال فوق بحرانی

منبع	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	مقدار F	احتمال p
مدل	۶	۱/۲۶	۰/۲۱	۳۴۹/۱۷	<۰/۰۰۰۱
A(دما)	۱	۱/۵۶۳E −۰۰۴	۱/۵۶۳E −۰۰۴	۰/۲۶	۰/۶۱۹۰
B(فشار)	۱	۰/۰۹۲	۰/۰۹۲	۱۵۱/۹۷	<۰/۰۰۰۱
C (زمان)	۱	۰/۸۶	۰/۸۶	۱۴۲۸/۷۱	<۰/۰۰۰۱
AB	۱	۰/۰۲۵	۰/۰۲۵	۴۲/۰۴	<۰/۰۰۰۱
AC	۱	۰/۰۲۸	۰/۰۲۸	۴۵/۸۶	<۰/۰۰۰۱
A^2	۱	۰/۲۶	۰/۲۶	۴۲۶/۲۰	<۰/۰۰۰۱
باقی‌مانده	۱۳	۷/۸۲۸E −۰۰۳	۶/۰۲۱E −۰۰۴		
فقدان برازش	۸	۵/۹۴۴E −۰۰۳	۷/۴۳۰E −۰۰۴	۱/۹۷	۰/۲۳۵۶
خطای خالص	۵	۱/۸۸۳E −۰۰۳	۳/۷۶۷E −۰۰۴		
کل	۱۹	۱/۲۷			

معادله مدل برازش داده شده بر پاسخ با حذف پسخور به صورت زیر می‌باشد:

$$y=1.25+0.076\times B+0.023\times C-0.065\times(A\times B)-0.059\times(A\times C)+0.097\times A^2 \quad (۴)$$

با توجه به نتایج حاصله در مورد بازده اثر درجه اول فشار و زمان، اثر درجه دوم دما و همچنین عبارات تاثیر متقابل دما- فشار و دما- زمان معنی‌دار بودند.

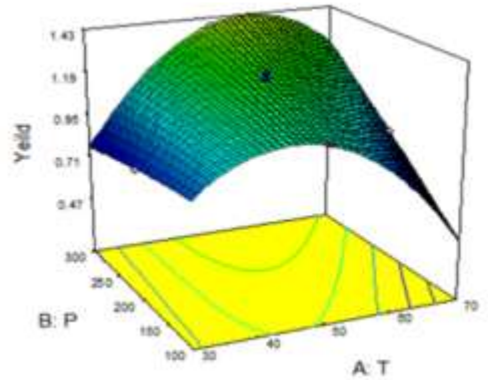
آنالیز پاسخ سطح در روش استخراج با سیال فوق بحرانی

تغییرات بازده استخراج موسیلاژ به روش سیال فوق بحرانی براساس تغییرات دما و فشار، در زمان ثابت (۹۰ دقیقه) در شکل (۳- الف) نشان داده شده است. در سطح پایین دمایی در اثر افزایش فشار، تغییری در بازده به چشم نمی‌خورد. اما با افزایش دما از ۴۵ درجه سانتی‌گراد به بعد، اثر افزایشی فشار بر بازده استخراج موسیلاژ نمایان است. که با توجه به معنی‌دار نشدن متغیر دما بر اساس جدول آنالیز واریانس اثرات مشاهده شده مربوط به فشار و اثر متقابل بین دما و فشار است. Xynos و همکاران (۲۰۱۷) نیز با افزایش فشار افزایش بازده را مشاهده کردند.

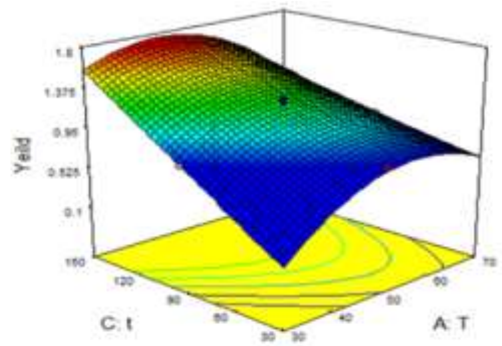
تغییرات بازده استخراج موسیلاژ به روش سیال فوق بحرانی بر اساس تغییرات دما و زمان، در فشار ثابت (۲۰۰ بار) در شکل (۳- ب) نشان داده شده است. با توجه به شکل در تمامی سطوح ثابت دمایی نمودار سطح پاسخ بازده استخراج موسیلاژ نسبت به افزایش زمان استخراج بازده روند افزایشی دارد. مطابق شکل افزایش دما اثر افزایشی و سپس کاهش خود را (هر چند اندک) در هر سطح ثابت زمان بر بازده استخراج مشابه نتایج سایر تحقیقات نشان می‌دهد. در تمامی سطوح ثابت زمانی با افزایش فشار، اثر افزایشی در بازده استخراج مشاهده می‌شود. در واقع به دلیل کاهش ناچیز دانسیته در فشارهای بالا اثر افزایش فشار بخار جز حل‌شونده بر آن غالب شده و موجب افزایش حلالیت و در نتیجه افرایش بازده می‌شود.

مطابق شکل (۳-ج) با افزایش زمان از ۳۰ تا ۱۵۰ دقیقه بازده استخراج با شیب تندی افزایش یافته است که حاکی از این است که با زمان دادن کافی به نمونه و اصلاحگر حلالیت ترکیبات قطبی افزایش یافته و بازده به مقدار قابل توجهی زیاد می‌شود. همچنین هیچ‌گونه پیچ خوردگی در نمودار سطح پاسخ دیده نمی‌شود که دلالت بر مهم نبودن اثر متقابل بین دما و فشار بر بازده استخراج موسیلاز به این روش است

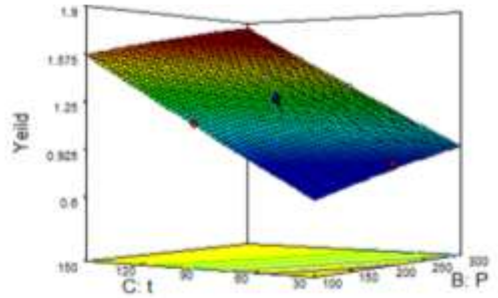
که در جدول آنالیز واریانس نیز مقدار احتمال p بزرگتر از ۰/۰۵ برای این متغیر گویای همین مطلب است.



الف



ب



ج

شکل ۳- نمودارهای سطح پاسخ پارامترهای استخراج در روش فوق بحرانی بر پاسخ

تعیین شرایط بهینه استخراج موسیلاژ از گیاه بامیه در روش فوق بحرانی

به‌منظور بهینه‌سازی بازده استخراج موسیلاژ بامیه از تکنیک بهینه‌سازی عددی استفاده شد. شاخص‌ها و اهداف بهینه‌سازی برای هریک از متغیرها و پاسخ فرایند در جدول ۹ آورده شده است.

شرایط بهینه با توجه به شاخص‌های مورد نظر دما ۴۸ درجه سانتی‌گراد، فشار ۲۵۵ بار و زمان ۱۳۵ دقیقه به‌دست آمد. همچنین مقدار پیش‌بینی شده شرایط بهینه توسط نرم‌افزار ۱/۶۹ می‌باشد. با توجه به اینکه مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل و مقادیر واقعی به‌دست آمده فاقد اختلاف معنی‌دار بودند میتوان نتیجه گرفت که مدل به‌دست آمده قابل قبول و مناسب می‌باشند. مقادیر واقعی گزارش شده در جدول ۱۰ میانگین دو تکرار می‌باشند.

بررسی فیزیکوشیمیایی موسیلاژ حاصل از هر دو روش استخراج با حلال و استخراج با سیال فوق بحرانی

نتایج بررسی‌های فیزیکو شیمیایی موسیلاژ حاصل از روش استخراج با حلال و استخراج با سیال فوق بحرانی در جدول ۱۱ آمده است.

جدول ۹- شاخص‌ها و اهداف بهینه‌سازی استخراج موسیلاژ بامیه به روش فوق بحرانی

متغیر ها-پاسخ	هدف	حدپایین	حد بالا	درجه اهمیت
دما	داخل محدوده	۳۰	۷۰	۳
فشار	داخل محدوده	۱۰۰	۳۰۰	۳
زمان	داخل محدوده	۳۰	۱۵۰	۳
بازده استخراج موسیلاژ	بیشترین	۰/۸۲	۱/۶۹	۳

جدول ۱۰- مقادیر واقعی و پیش بینی شده بازده استخراج در شرایط بهینه

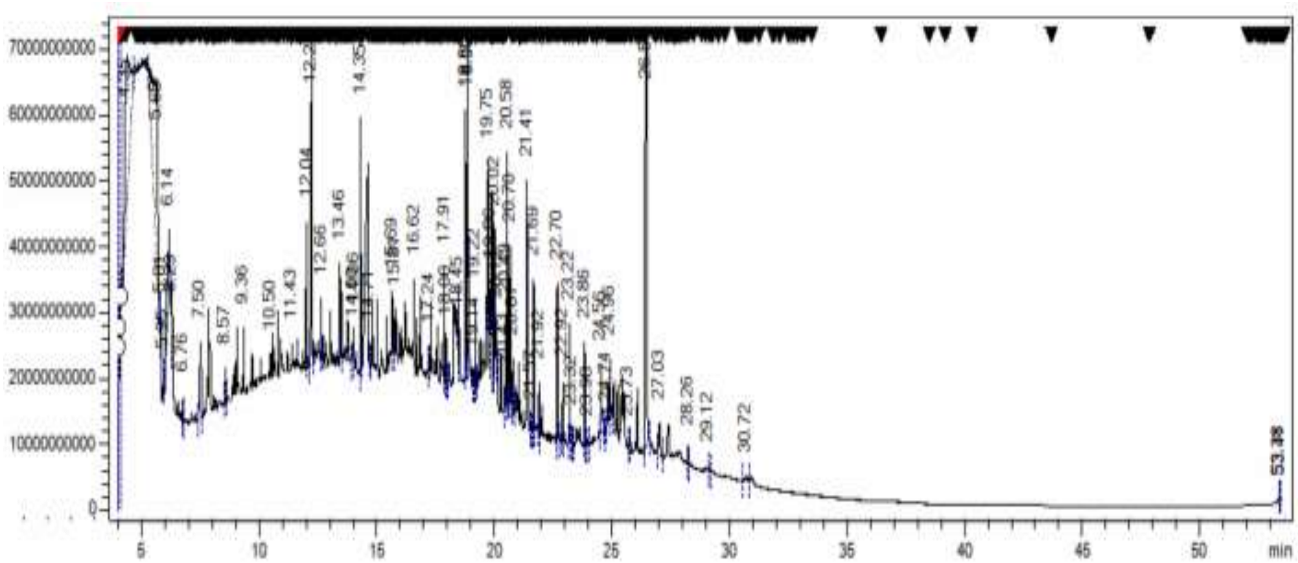
پاسخ	مقدار پیش‌بینی شده	مقدار واقعی
بازده موسیلاژ استخراجی(٪وزنی)	۱/۶۹	۱/۵۸

جدول ۱۱- نتایج بررسی‌های فیزیکوشیمیایی پودر موسیلاژ بامیه

موضوع	نتایج حاصل از موسیلاژ با حلال	نتایج حاصل از موسیلاژ با فوق بحرانی
حلالیت	قابل حل در آب	قابل حل در آب
شاخص تورم	۲۸	۱۸
رطوبت	۱۰/۵۰	۹/۸۸
خاکستر کل	۳	۲/۳
خاکستر نامحلول در اسید	۰/۷	۰/۶
pH	۵/۱	۵/۶

آنالیز کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی– طیف‌سنجی جرمی برای مشتقات تری متیل سیلیل قندهای تشکیل‌دهنده موسیلاژ (پلی‌ساکارید) استخراجی از روش فوق بحرانی در کروماتوگرام شکل ۴ آمده است. طیف حاصل از GC–MS نشان می‌دهد که مونوساکاریدهای اصلی حاضر در موسیلاژ استخراجی از بامیه به روش فوق بحرانی بر اساس زمان ماند پیک ترکیبات جدا شده و مقایسه با استانداردهای مرجع از مشتقات قندی TMSI شامل آرابینوز (۱۶/۶۲ دقیقه)، رامنوز (۱۸/۴۵ دقیقه)، گالاکتوز (۱۹/۲۲ دقیقه)، گالاکتورونیک اسید (۲۰/۱۷ دقیقه) و گلوکز (۱۹/۷۵ دقیقه) می‌باشد. موسیلاژ حاصل از روش فوق بحرانی با توجه به آنالیز از نظر وجود پلی‌ساکارید خالص‌تر بوده است زیرا ترکیبات ناشناخته کمتری مشاهده گردید. این بررسی نشان می‌دهد که عصاره استخراجی از روش فوق بحرانی پلی‌ساکارید مورد نظر در گیاه بامیه می‌باشد. جدول ۱۲ زمان بازداری مشتقات قندی را نشان می‌دهد. مطابق شکل ۴ مشتقات قندی در زمان های بازداری و نتایج حاصل از طیف‌سنجی جرمی در محدوده زمانی مورد نظر دیده شده است. به‌عنوان نمونه آرابینوز در زمان ۱۶/۶۲ دقیقه در طیف مشاهده شده و در مشتقات حاصل از TMSI نیز بیشترین پیک را داشته است که نشان از وجود ترکیب آرابینوز در موسیلاژ استخراج شده است.



شکل ٤-کروماتوگرام و زمان های بازداری مشتقات قندی مربوط به آنالیز GC-MS موسیلاژ حاصل از روش فوق بحرانی

جدول ۱۲- مونوساکاریدهای تشکیل‌دهنده موسیلاژ حاصل از استخراج فوق بحرانی

واحد قندی	زمان بازداری (دقیقه)	زمان بازداری قند های استاندارد (دقیقه)
آرابینوز	۱۶/۶۲	۱۶/۴۹
رامنوز	۱۸/۴۵	۱۸/۴۵
فروکتوز	۱۸/۹	۱۸/۹۰
گالاکتوز	۱۹/۲۲	۱۹/۳۲
گلوکز	۱۹/۷۵	۱۹/۶۲
گالاکتورونیک اسید	۲۰/۱۷	۲۰/۲۱

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی با توجه به نتایج حاصل از هر دو روش استخراج، بازده استخراجی موسیلاژ در نقطه بهینه در روش استخراج با حلال برابر ۵/۱۲ درصد و در روش فوق بحرانی برابر ۱/۵۸درصد به‌دست آمد. با مقایسه مقادیر حاصله در نقطه بهینه هر دو روش، روش حلال از بازده کل بیشتری برخوردار بوده و موفق‌تر عمل کرده است. اما در روش سیال فوق بحرانی نسبت به روش خیساندن استفاده از حلال به مقدار قابل توجهی کاهش یافته است. همچنین زمان استخراج در روش سیال فوق بحرانی حدود ۵۰ درصد کاهش یافته است. به دلیل استفاده کمتر از حلال‌های آلی در روش فوق بحرانی سازگاری این روش با محیط زیست بیشتر بوده که این نکته در تبدیل روش آزمایشگاهی به مقیاس پایلوت و یا صنعتی قابل توجه است. بررسی فیزیکو شیمیایی موسیلاژ حاصل از دو روش نشان می‌دهد که شاخص تورم، رطوبت و خاکستر موسیلاژ حاصل از روش خیساندن بیشتر از موسیلاژ حاصل از روش فوق بحرانی می‌باشد.

منابع

پیوست، غ، ۱۳۸۸، سبزیکاری، چاپ پنجم، انتشارات دانش پذیر، تهران، صفحه ۲۷۷.

فرزانه مقدم، ف.، سرگلزایی، ج، بلوریان، ش.،۱۳۹۸، استخراج ترکیبات فنولی میوه عناب با سیال فوق بحرانی کربن دیاکسید و بهینه‌سازی و اندازه گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی آن، نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۱۵، شماره ۵، صفحات ۵۴۲-۵۲۹.

مسکوکی ،طباطبائی ،ف، کریمی، م، محبی، م، و بلندی، ۱۳۸۹، صنایع غذایی نوین, انتشارات سخن گستر مشهد.

مظفریان، م.، ۱۳۹۱، شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران، انتشارات فرهنگ معاصر تهران.

Irvine, F. R., 1971, West African Botany Agricultural origins, Oxford Univ Press, p. 203.

Tripathi., K. K., Warrier, R., Govila, O. P., and Ahuja, V, 2011, Biology of Abelmoschus esculentus L (Okra), Dept. Biotechnol Minist. Sci. Technol. Gov. India, pp 1-21.

Lamont, W, 1999, Okra a versatile vegetable crop., Hort. Technol., pp. 179-184.

Bakre, L. G. and Jaiyeoba, K. T, 2009, Evaluation of a new tablet disintegrant from dried pods of Abelmuscus esculentusL (Okra), *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, pp 83-91.

Zhanga, T. Xianga, J. Zheng, G.Yana, R. Mina, X, 2018, Preliminary characterization and anti-hyperglycemic activity of a pectic, *Functional Foods*, Vol. 41, pp. 19-24.

Ivanice, F, Ana, M.P, Uenderson , A, Barbosa, J. S, Lima, D.C, Geraldo, D.M, 2013, Multivariate analysis of the mineral content of raw and cooked, *Microchemical Journal*,Vol.110, pp.439-443.

Jani, G.K., Shah, D., Prajapati, V.D., Jain, V.C., 2009, Gum and mucilage, *Asian Journal of Pharmaceutical sciences*, pp. 439-443.

Kalia, H. R. and Padda, 1962, Inheritance of some fruit characters in okra, *Indian Journal of Genet. and Plant Breed*, pp. 57-68.

Ghori, M.U., Alba, K., Smith, A.M ., Conwaya, M.R., Kontogiorgos, V., 2013, okra extract of farmaceutical and food application, *Food Hydrocolloids*, Vol. 42, pp.342-347.

Farooq, U., Malviya, R., Sharma, P.K., 2013, Extraction and Characterization of Okra Muclage as Pharmaceutical Excipient, *Academic Journal of Plant Sciences*, Vol 6 (4), pp. 168-172.

Noorlaila, A., Siti Aziah, A., Asmeda, R., Norizzah, A.R, 2015, Emulsifying properties of extracted Okra (*Abelmoschus esculentus* L.) mucilage of different maturity index and its application in coconut milk emulsion, International Food Research Journal, Vol. 22(2), pp. 782-787.

Nazni, P., Vigneshwar, P ., 2014, Study on extration and orgaoleptic evaluation of Okra and hybiscu mucilage incorporated products, Department of Food Science and Nutrition, Vol. 3 (1), pp. 2320-7876.

Fekadu Gememde, H., Haki, G., Beyene, F., Rakshit, S.,2018, Wold novel ingredient with functional and antioxidant

properties, *Food science*, Vol. 6, pp. 563-571.

Ameena, K., Dilip, C., Saraswathi, R., Krishnan, P.N. Sankar, C., Simi, S.P., 2010, Isolation of the mucilages from Hibiscus rosasinensis linn. and Okra (*Abelmoschus esculentus linn*.) and studies of the binding effects of the mucilages, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, pp. 539–543.

Mishra, A., Clark, J.H., Pal, S., 2008, Modification of Okra mucilage with acrylamide: Synthesis, characterization and swelling behavior, *Carbohydrate Polymers*, pp. 608–615.

Zaharuddin, N.D., Noordin, M., Kadivar, A, 2014, The Use of Hibiscus esculentus (Okra) Gum in Sustaining the Release of Propranolol Hydrochloride in a Solid Oral Dosage Form, *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, pp.1-8.

Oosterveld, A., Beldman, G., Schols, H.A., Voragen, A.G.J., 1996, Arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides extracted from sugar beet pulp, *Carbohydrate Research*, pp. 143–153,.

Zykwinska, A., Rondeau-Mouro, C., Garnier, C., Thibault, J. Ralet, M.C., 2006, Alkaline extractability of pectic arabinan and galactan and their mobility in sugar beet and potato cell walls, Carbohydrate Polymers, pp. 510–520.

Liu, Z. D., Wei, G. H., Guo, Y. C., Kennedy, J.F., 2006, Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave, *Carbohydrate Polymers*, pp. 548–552.

Koocheki, A., Kadkhodaee, R., Mortazavi, S.A., Shahidi, F., Taherian, A.R., 2009, Influence of Alyssum homolocarpum seed gum on the stability and flow properties of O/W emulsion prepared by high intensity ultrasonic, *Food Hydrocolloids*, Vol. 23, pp. 2416–2424.

Bendahou, A., Dufresne, A., Kaddami, H., and Habibi, Y., 2007, Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of Phoenix dactylifera L., *Carbohydrate Polymers*, Vol. 68, pp. 601–608.

Xynos, N., Termentzi, A., Fokialakis, N., Skaltsounis, L.A., Aligiannis, N., 2017, Supercritical CO2 extraction of mastic gum and chemical characterization of bioactive fractions using LC-HRMS/MS and GC–MS, *The Journal of Supercritcal Fluids.*

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 17, No. 2, June. July. 2021, p. 379- 392

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۷، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۰ ص.۳۹۲-۳۷۹

Evaluation of physicochemical properties of Mucilage and comparison of extraction efficiency of two solvent and supercritical methods

F. Karani, J. Sargolzaei*

Received: 2019.12.30
Accepted: 2020.07.18

Introduction: The Okra belongs to the family Malvaceae with the scientific name Abelmoschus esculentus (Peyvast, 2009). The viscous property of okra is due to the thick and viscous matter in the fruit pod, called mucilage. Okra mucilage is a polysaccharide currently used in pharmaceutical industry as a hydrophilic polymer in tablet coatings (Bakre et al, 2009). Mucilage collectively contains polysaccharides, proteins, and minerals found in a plants or seeds that are more widely used in various industries, including food industry, as a stiffener in dairy products. Mucilage composed of monosaccharide polymers, amorphous and semi-transparent, and are hydrocolloids. These materials are hydrophilic molecules that can be extracted with water and form a concentrated or gel solutions. Gels are widely used in the food, pharmaceutical and non-pharmaceutical industries. The cultivation of okra in Iran is mainly occurred in tropical and subtropical regions and is found in Khuzestan, Ilam, Kermanshah, South Fars, Bushehr and Hormozgan provinces (Mozafarian, 2012). Many studies have been done on the extraction of okra mucilage and its applications in the pharmaceutical and food industries. Faroq et al. worked on the organoleptic properties of okra mucilage and concluded that okra mucilage has good flow properties and high solubility in water that can be used safely without any side effects (Farooq et al, 2013).). Noorlaila et al studied the emulsifying property of mucilage extracted from okra (Noorlaila et al, 2014). Nazni and Vigneshwar studied the extraction and evaluation of organoleptic properties of mucilage from okra and several other plants and used ethanol and acetone to purify mucilage (Nazni et al, 2012). A study was conducted in 2018 to study the basic properties such as swelling index, emulsion stability, viscosity and antioxidant activity of okra mucilage (Fekadu Gememde et al, 2018). In a study on the use of okra mucilage in pharmacy, Ameena et al after extracting mucilage from okra and measured the physicochemical properties of mucilage, applied it in tablet formulation and many parameters such as diameter, thickness, weight change, hardness and Fragility were assessed. According to observations, low concentrations of okra mucilage can be used as a substitute for starch in tablet formulation, and also high levels of okra mucilage can be used in the drug release system as a natural substance (Ameena et al, 2010). In a study, Mishra et al presented okra mucilage as a new proposal to replace polymer materials used in various industries (Mishra et al, 2008). In 2014, the effect of okra mucilage on the release of propranolol hydrocolloid in tablets was studied. The highest hardness and lowest brittleness were observed for okra tablets (Zaharuddin et al, 2014). In this research, extraction of okra mucilage was investigated by two methods of solvent and supercritical fluid extraction. Optimization the yield and physicochemical properties of the extract obtained from both methods was also investigated.

Materials and methods: Fresh okra obtained from local supermarket in Khuzestan province. Chemicals materials such as pure ethanol, acetone, chloroform, acetonitrile purchased from Merck and Sigma Aldrich. After transferring the okra fruit to the laboratory, the contaminants were removed from the plant and then rinsed thoroughly with water. The okra pods were dried at about 40 °C in a digital fan oven model 6882A. It was powdered by a German-made electric milling machine and then it passed through a 30-mesh sieve to be ready for extraction and it was weighted by laboratory scales (0.0001 precision manufactured by Cornell, Germany). In the solvent extraction process, the okra powder was weighed by a digital balanced (GR-200 model made in Japan) and transferred to 250 ml human. The solids stirred in distilled water and various amounts of solvent for 1 to 5 hours until the mucilage is completely released into the water. The solution was filtered and then adjacent to an organic solvent. Then, the filtrate was poured again into Petri dish and placed on a water bath at 45 °C to evaporate the residual solvent inside it. The residue inside the Petri dish was dried in a fan oven (Reyhan Teb Company) at 40 °C and powdered and kept at 20 °C until the day of analysis. In the supercritical extraction method, the supercritical fluid extraction machine which designed and manufactured in the laboratory of the Faculty of Engineering at Ferdowsi University of Mashhad was used. The carbon dioxide was supplied by Khakakan Co., Quchan Road, Iran in a 45 kg cylinder.

Results & Discussion: Generally, according to the results of both methods of solvent extraction and supercritical fluid extraction (SFE), the extraction efficiency of mucilage at the optimal point in the solvent extraction and in the supercritical methods was 5.12% and 1.58%, respectively. Due to the less use of organic solvents in the supercritical method, this method is more environmentally friendly, which is significant in converting the laboratory method to pilot or industrial scale. Physio-chemical analysis of mucilage obtained by two methods shows that the index of swelling, moisture and ash

(*Corresponding Author Email: sargolzaei@um.ac.ir)

of mucilage obtained by maceration is more than that of supercritical mucilage. By comparing the obtained values at the optimal point of both methods, the solvent method has a higher total efficiency and has been more successful. However, in the supercritical fluid method, the solvent utilization is significantly reduced. The extraction time in the supercritical fluid method is also reduced by about 50%.

Keywords: Okra, Mucilage, Optimization, Solvent, Supercritical, Polysaccharide